セルファイン サルフェイトは、多孔性球状セルロース粒子を直接硫酸化した、ヘパリノイドゲルでウィルス、凝固系因子などの精製に使用されるアフィニティークロマトグラフィーメディアです。

材料

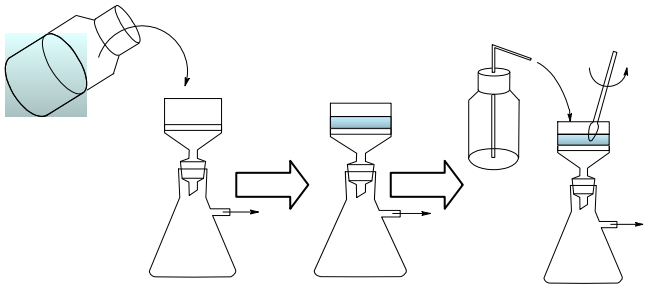
セルファイン サルフェイト、*中低圧カラム、ポンプ/吸引ビン

ガラスフィルターor ブフナーロート、充填バッファー

＊　中低圧カラムは、Millipore 社ヴァンテージカラム、他 Amersham，BIO-RAD, EYELA 社製カラムなどが使用できます。

＊　充填バッファーは、吸着バッファーを用いる事を推奨します。

ゲルスラリーの調整



・　使用する材料を室温にする。

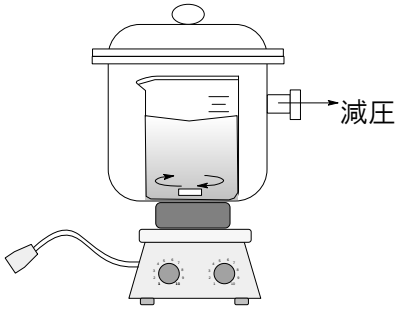
・　製品のボトルを数回振り、スラリーを均一にする。

・　吸引ろ過により保存剤（20%EtOH）を吸引除去する。

・　純水で EtOH 臭が無くなるまでろ過洗浄する。

・　ビーカーに、脱水ゲルと充填バッファーを加え、良く撹拌した後、吸引ろ過をする（２～３回）。（充填バッファーは脱水ゲル容量のおおよそ１～1.5 倍使用する）

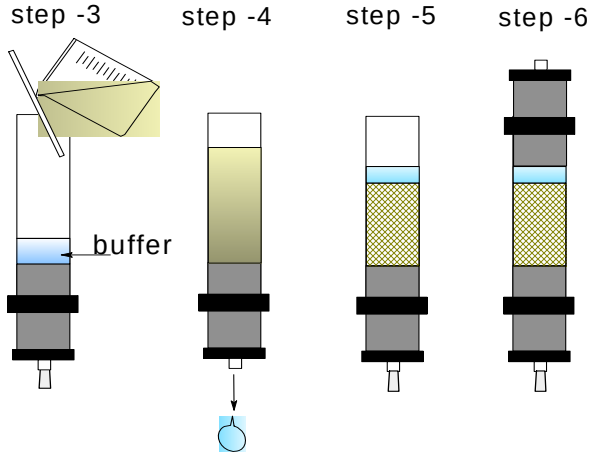
・　ビーカーに、脱水ゲルと充填バッファーを加えおおよそ 40%～60%のスラリーを調製し、減圧下で 30 分～40 分脱気する。



※脱気する際にマグネチックスターラーで緩やかに撹拌するとより効果的に脱気できます。

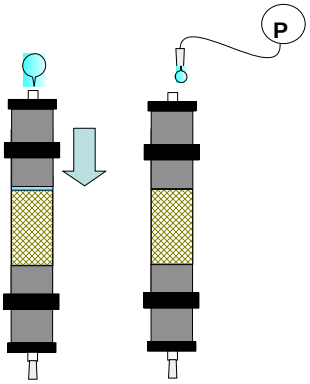
カラムの充填

1. カラムの組立て、操作方はカラムの取扱説明書を参照ください。
2. カラムの下に栓をして少量の充填バッファーを加えておく。（カラムのゲルサポートは脱気しておく）
3. 脱気したゲルスラリーを良くかき混ぜて均一にして、カラム内へ注ぎ込む
4. カラム下部のよりバッファーを流出させて、ゲルベットを形成させる。
5. 目的の高さよりやや高い（1cm-2cm）までゲルベットを形成させ、更にその上部にバッファーを 1cm-2cm になるように加えて、カラム下部のプラグをする
6. カラム上部のゲルサポートをセットする。



カラムの平衡化

1. 充填したカラムをポンプにつなぎ、充填バッファーを流してゲルベットを安定化させます。送液圧力はおよそ 1-2MPa 以下で行います。
2. カラムベッドが安定したら（高さが安定したら）カラム高さを調整する。多い場合は駒込ピペットで取り除く、少ない場合はゲルを加える。
3. 希望のカラム高さになったら、ベットサポートをゲルベット上面に密着させる。



・　カラム下部のプラグをする

・　上部サポーターを徐々に下ろす。（カラム上部出口より液がでてくる）

・　液の満たされたラインをカラム上部に接続する。

4.　平衡化バッファーをゲルベッド体積の５倍程度流す。

※平衡化が達成されれば、カラム溶出液のｐ H とイオン強度は、充填バッファーと同じになります。

サンプルの調整

添加するサンプルのイオン強度は充填バッファー（結合バッファー）と同じかそれ以下になるように調整します。結合バッファーに対してサンプルを透析するか、より簡単にするためには、セルファイン GH25 によるバッファー交換ゲルろ過によってサンプルを調整することができます。

サンプルの中の不溶物は、カラムへ添加する前に、メンブランフィルターで除去しておきます。

流速

サンプルの結合と溶出の際の流速は、分離能に影響します。通常、流速が低い方が高分離になります。

吸着

セルファイン サルフェイトへの目的タンパク質の吸着は、通常ｐＨ７付近の 0.15mol/L　NaCl を含む 10 mMリン酸バッファーが多用されています。

溶出

セルファイン サルフェイトからの目的サンプルの溶出には、NaCl の直線的なグラジエントが一般的に採用されている。グラジエントはカラム体積の５倍から 10 倍の容積で、吸着バッファーに含まれる NaCl 濃度を最終的に 0.5mol/L 程度まで増加させる。目的サンプルが溶出されない場合には、更に高濃度の NaCl を流すか、バッファーのｐ H を変えて見る。

NaCl の直線的グラジエントのほかにも、NaCl 濃度のステップワイズ溶出やｐ H グラジエント、ｐ H ステップワイズによる溶出もできます。

再生

高イオン強度のバッファー（1-2mol/L NaCl　含有バッファー）を用いて溶出液のＵＶをモニターし十分値が低く、変化がなくなるまで洗浄する。その後、再び吸着バッファーで平衡化する。

Cleaning-in-place (CIP)

再生と同じ操作で、イオン的に吸着した物質を洗浄したのち 0.1mol/L の NaOH をカラム体積の５倍程度流す。その後、吸着バッファーで平衡化する。

保存

開封後のセルファイン サルフェイトを保存する場合は、良く洗浄した後に、20%エタノールに液を置換して、２～８℃で保存されることを推奨いたします。

安定性

中性付近の緩衝液中で 120℃、30 分のオートクレーブが可能。使用するｐＨは３～１２の範囲が推奨される。特に酸性側では硫酸エステルが分解される可能性がある。

表　セルファイン サルフェイトの安定性

＊　Lysozyme の吸着容量

Solution	Temp. (ºC)	Time (day)	*Adsorption Capacity (%)	**Sulfur Content (%)
1mol/L NaCl (control)	4	7	100	100
pH1.0	4	7	103	78
pH1.0	30	2	75	48
pH13.0	4	7	96	100
pH13.0	30	2	105	107
6mol/L urea	4	7	103	100
6mol/L guanidin-HCl	4	7	103	100

＊　pH1.0=0.13mol/L HCl　pH13=0.13mol/L NaOH

セルファイン サルフェイト製品案内

品名	容量	Code No.
ミニカラム セルファイン サルフェイト	5 x 1ml	19845-51
ミニカラム セルファイン サルフェイト	1 x 5ml	19845-15
セルファイン サルフェイト	10ml	676 943 324
セルファイン サルフェイト	50ml	19845
セルファイン サルフェイト	500ml	19846
セルファイン サルフェイト	5L	19847
セルファイン サルフェイト	10L	19849

JNC株式会社
〒100-8105 東京都大手町二丁目２番１号
ライフケミカル推進室
電話 03-3243-6150　FAX 03-3243-6219
URL:http://www.jnc-corp.co.jp/fine/jp/cellufine
e-mail: cellufine@jnc-corp.co.jp